

НАКОПЛЕНИЕ БИОМАССЫ КУЛЬТУРОЙ *CHLORELLA VULGARIS* ПРИ ДОБАВЛЕНИИ ХЛОРИДА КОБАЛЬТА В ПИТАТЕЛЬНУЮ СРЕДУ

К.О. Гащук, 4 курс;

Научный руководитель – И.А. Ильючик, старший преподаватель
Полесский государственный университет

Введение. Вид *Ch. vulgaris* относится к роду *Chlorella*, который объединяет группу автотрофных протококковых водорослей, представленных в основном одиночными клетками размером от 2 до 15 мкм [1, с. 52]. Благодаря относительно простой организации, большой скорости размножения, возможности культивирования в полностью контролируемых условиях, высокой пластичности метаболизма хлорелла нашла широкое применение в различных областях деятельности человека: в сельском хозяйстве, медицине, пищевой промышленности, парфюмерии, очистке сточных вод и т.д. [2, с. 17].

Химический состав хлореллы, зависит от состава питательной среды, на которой она выращена. При выращивании на обычных минеральных средах в сухой биомассе *Chlorella* содержится 40–55% белка, 35% углеводов, 5–10% липидов и до 10% минеральных веществ. Она синтезирует значительное количество различных витаминов, в том числе цианкобаламин – витамин B12, который не синтезируют ни дрожжи, ни высшие растения [3, с. 80].

Кобальт является истинным биоэлементом, в клетках микроорганизмов он выполняет ряд специфических функций. Например, участвует во многих ферментативных реакциях, входит в состав витамина B12, кобамидных коэнзимов, метилкорриноидов и др. При недостатке кобальта у микроводорослей не наблюдается существенных изменений в росте и развитии. Токсичность его может проявляться в культуре *Ch. vulgaris*, в отсутствие других микроэлементов, связано это с высокой проникающей способностью кобальта и его накоплением в клетках [4, с. 67, 73].

В литературных источниках крайне мало информации о концентрационной зависимости физиологических процессов микроводоросли хлореллы от наличия ионов кобальта в среде.

Цель работы – исследовать накопление биомассы микроводорослью *Ch. vulgaris* в условиях периодической культуры при добавлении хлорида кобальта (CoCl_2) в питательную среду.

Материалы и методы исследования. Объектом исследований служила культура микроводоросли *Ch. vulgaris*, штамм *IBCE C-19* из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

Хлореллу выращивали на среде Таммийя [5, с. 96] при температуре окружающей среды 25–26 °C, при непрерывном барботировании суспензии воздухом со скоростью 30–32 л/ч; продолжительность световых и темновых фаз – 12 ч/12 ч. Посевная доза составляла $3,68 \pm 0,23$ млн клеток. Концентрацию клеток хлореллы определяли с помощью камеры Горяева. В питательную среду дополнительно вносили раствор CoCl_2 до конечной концентрации 0,05, 0,50, 5,0, 25,0, 50,0, 100,0 мг/л. В питательную среду контрольного варианта соль кобальта не добавляли. Подсчет биомассы осуществляли на 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15-е сутки культивирования.

Все исследования проведены девятикратно. Полученные результаты обработаны статистически с использованием программы Statistica 6.0 по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. В контроле, отсутствие CoCl_2 в питательной среде, не сказалось на культуре негативно, культура на протяжении 15 суток культивирования накапливала биомассу (таблица).

Таблица – Динамика биомассы в культуре хлореллы при добавлении в питательную среду хлорида кобальта

Концентрации Co ²⁺ , мг/л	Биомасса, млн клеток/мл			
	1 сутки	3 сутки	5 сутки	7 сутки
Контроль	3,92 ± 0,55	8,00 ± 2,75	14,24 ± 3,50	13,28 ± 4,22
0,05	3,68 ± 0,23	14,24 ± 1,79*	15,09 ± 4,17	19,43 ± 3,10*
0,50	4,95 ± 0,25*	13,65 ± 2,76*	16,92 ± 4,39*	17,14 ± 3,00*
5,00	4,23 ± 0,28	11,32 ± 3,15*	13,71 ± 5,21	21,27 ± 2,38*
25,00	4,09 ± 0,15	10,82 ± 1,42*	13,79 ± 2,78	21,06 ± 2,59*
50,00	4,52 ± 0,42*	18,05 ± 3,80*	17,98 ± 3,47*	24,89 ± 5,49*
100,00	4,86 ± 0,16*	18,45 ± 0,87*	18,77 ± 3,20*	26,12 ± 6,52*
Концентрации Co ²⁺ , мг/л	9 сутки	11 сутки	13 сутки	15 сутки
Контроль	20,79 ± 1,17	33,93 ± 3,33	28,48 ± 6,30	25,71 ± 3,01
0,05	24,26 ± 1,66*	34,40 ± 3,26	27,78 ± 3,15	30,44 ± 0,67*
0,50	25,54 ± 5,52*	28,60 ± 5,43*	30,06 ± 7,87	53,01 ± 3,35*
5,00	37,08 ± 8,04*	32,45 ± 3,56	47,70 ± 4,65*	42,61 ± 5,12*
25,00	33,84 ± 6,67*	40,01 ± 2,54*	25,54 ± 2,34	32,85 ± 3,98*
50,00	40,08 ± 8,11*	36,09 ± 4,07	52,43 ± 2,66*	29,73 ± 3,37*
100,00	36,21 ± 8,23*	46,01 ± 7,57*	38,37 ± 0,85*	39,85 ± 0,85*

Примечание – * – данные статистически достоверны при P≤0,05

На 3, 5, 7, 9, 11-и сутки уровень биомассы увеличился в 2, 3,5, 5,3 8,7 раза (максимум), соответственно, в сравнении с 1-и сутками культивирования. На 13-е сутки биомасса хлореллы уменьшилась в 1,2 раза по сравнению с 11-ми сутками, а на 15-е сутки в 1,1 раз по сравнению с 13-и сутками. На момент конца эксперимента биомасса в контроле увеличилась в 6,5 раз по сравнению с 1-и сутками.

При добавлении в среду CoCl₂ концентрацией 0,05 мг/л наблюдался процесс активного накопления биомассы хлореллой. Так, уже на 3, 5, 7, 9-е сутки уровень биомассы, увеличился в 3,9, 4,1, 5,3, 6,6 раза, соответственно, в сравнении с 1-и сутками. На 11-е сутки в 9,4 раза (максимум) в сравнении с 1-ми сутками культивирования, однако, на 13-е сутки биомасса уменьшилась в 1,2 раза по сравнению с 11-и сутками, а на 15-е сутки эксперимента биомасса увеличилась в 1,1 раз по сравнению с 13-и сутками. На момент конца эксперимента биомасса увеличилась в 8,3 раза по сравнению с 1-и сутками.

При концентрациях CoCl₂ 0,5, 5,0 и 25,0 мг/л на 3 и 5-е сутки биомасса увеличилась в 2,7 и 3,4 раза, на 7-е сутки в 3,5, 5,0, 5,1 раза, на 9-е в 5,2, 8,8, 8,3 раза соответственно, в сравнение с 1-и сутками. Максимум биомассы при концентрации CoCl₂ 0,5 мг/л приходился на 15-е сутки – увеличение в 10,7 раз, при 5,0 мг/л на 13-е сутки – увеличение в 11,3 раза, а при 25,0 мг/л на 11-е сутки – увеличение в 9,8 раза, в сравнение с 1-и сутками. В образцах с концентрацией эффектора 0,5, 5,0 и 25,0 мг/л на момент окончания эксперимента биомасса, в сравнение с 1-ми сутками, увеличилась в 10,7, 10,0 и 8,0 раза соответственно.

Дальнейшее повышение концентрации CoCl₂ в питательной среде не приводило к угнетению роста культуры. Так, при его концентрациях 50,0 и 100,0 мг/л на 3 – 7-е сутки уровень биомассы увеличился в 4 – 5,5 раза по сравнению с 1-и сутками. На 9-е сутки при концентрации CoCl₂ 50 мг/л наблюдалось увеличение в 1,6 раза по сравнению с 7-и сутками, затем на 11-е сутки уменьшение в 1,1 раза по сравнению с 9-ми сутками, на 13-е сутки увеличение в 1,5 раза (максимум) в сравнении с 11-ми сутками, на 15-е сутки уменьшение в 1,8 раз по сравнению с 13-и сутками. На момент конца эксперимента биомасса увеличилась в 6,6 раз по сравнению с 1-и сутками.

При концентрации 100,0 мг/л на 9 и 11-е сутки биомасса увеличилась в 7,5 и 9,5 раза (максимум), соответственно, по сравнению с 1-ми сутками. На 13-е сутки биомасса уменьшилась в 1,2 раза, в сравнении с 11-ми сутками, а на 15-е сутки увеличилась в 1,0 раз по сравнению с 13-и сутками. На момент конца эксперимента биомасса увеличилась в 8,2 раза по сравнению с 1-и сутками.

Закключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что добавление CoCl₂ в среду культивирования способствует накоплению биомассы *Ch. vulgaris*. Ее максимальное количество при-

ходится на 11-15 сутки культивирования. Высокие концентрации эффектора, как и его отсутствие, не приводят к угнетению роста культуры. Накопление биомассы носило линейный характер только при концентрации эффектора 0,5 мг/л, в остальных случаях рост был «волнообразным», что гласит о наличии в культуре структурно-метаболических перестроек, которые требуют дальнейшего изучения.

Список использованных источников

1. Мельников, С.С. Оптимизация условий выращивания хлореллы / С.С. Мельников [и др.] // Весці НАН Беларусі. Сер.біял. навук. – 2014. – №3. – С. 52–56.
2. Ильючик, И.А. Значение исследований организации системы протеолиза хлореллы для целей биотехнологии / И.А. Ильючик, О.Н. Жук, В.Н. Никандров // Биотехнология: достижения и перспективы развития: сб. матер. I Междунар. научно-практ. конф., г. Пинск, Республика Беларусь, 25-26 сентября 2014 г. – Пинск: ПолесГУ, 2014. – С. 16-17.
3. Музафаров, А.М. Культивирование и применение микроводорослей / А.М. Музафаров, Т.Т. Таубаев. – Ташкент: Фан УзССР, 1984. – 136 с.
4. Упитис, В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей / В. Упитис. – Рига: Зинатне, 1983. – 240 с.
5. Каталог генетического фонда хозяйственно полезных видов водорослей: научное издание / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т биофизики и клеточной инженерии; сост. С.С. Мельников [и др.]. – Минск: Беларуская навука. – 2011. – 101 с.